Sur l'action antagoniste des substances oestrogènes dans la métamorphose expérimentale des Amphibiens (3e *note*).

Par Paul Roth.

D'assez nombreux auteurs ont enregistré des succès dans la thérapeutique des thyréotoxicoses en utilisant des substances androgènes et oestrogènes. Parmi eux on peut citer Simpson (*25*) qui, en 1937 employa l'oestrone, Loeser (*19*) qui, en 1938 essaya la testostérone et, tout récemment Lederer (*18*) qui obtint des résultats remarquables en prescrivant des injections de folliculine à des Basedowiennes.

J'avais déjà enregistré, en 1941, 1942 et 1943 (*20-21-22*) des résultats encourageants en utilisant le Propionate de testostérone comme substance antagoniste de la thyroxine dans la métamorphose expérimentale des Batraciens anoures, mais je n'avais obtenu, à ces différentes époques aucun succès avec la Di-hydro-folliculine (Benzoate d'oestradiol) et la Progestérone (Lutogyl).

Je repris la question en 1946 et en 1947 en utilisant, cette fois, des Axolotls albinos immatures provenant d'un élevage connu des environs de Paris.

Dans mes premiers essais en 1946 (*23*) je constatai que, chez les Axolotls sexuellement mûrs, le sexe jouait un rôle important, les individus mâles supportant mal les hormones femelles et vice-versa. Au contraire, les animaux immatures supportaient mieux le traitement anti-thyroxinien et se montraient plus sensibles à l'action de la thyroxine. Par exemple, la métamorphose de l'un de ces derniers, qui avait reçu 325 gammas, (20 gammas par gramme d'animal) de thyroxine et 35 milligrammes de Propionate de testostérone (Sterandryl) s'arrêta à la suite de l'injection supplémentaire de 10 milligrammes de cette substance, tandis qu'à un animal sexuellement mûr, qui avait reçu 650 gammas de thyroxine (10 gammas par gramme), une dose égale de testostérone (35 milligrammes) ne pût empêcher la métamorphose de s'accomplir.

En conséquence, mes essais de 1947 (*24*) furent effectués avec des Axolotls immatures et je constatai alors que, ainsi que je l'avais observé l'année précédente, l'influence du sexe ne se faisait plus sentir chez de tels animaux, mais je constatai également que, les substances oestrogènes délivrées, comme les androgènes, *après* le

traitement thyroxinien, n'avaient toujours aucune action empêchante sur la métamorphose expérimentale.

Au cours de ces seconds essais, je constatai aussi que les substances androgènes s'opposaient mieux à l'action de la thyroxine quand une injection d'hormone thyréotrope (thyrhormone Byla) l'avait précédée.

Je poursuivis ces recherches en collaboration avec SLUCZEWSKI (*26*) toujours avec des Axolotls albinos immatures, mais nous résolûmes alors de délivrer les substances oestrogènes *avant* et non après le traitement thyroxinien.

Cette nouvelle méthode donna des résultats très remarquables. Des substances comme la Di-hydro-folliculine et la Progestérone qui, délivrées après le traitement thyroxinien n'avaient eu, comme je l'ai relaté plus haut, aucun effet antagoniste vis-à-vis de ce traitement, purent alors freiner et arrêter le cours des processus de la métamorphose expérimentale et beaucoup plus nettement que les substances androgènes, mais que celles-ci possédaient ce pouvoir empêchant quelque fût leur mode d'administration.

Sept substances furent essayées et, en prenant comme critères de leur action antagoniste les quatre phrases de la métamorphose expérimentale de l'Axolotl décrites par ZAVADOWSKI et ZAVADOWSKY (*34*) on pût les classer dans l'ordre suivant :

1 — Acide bisdéhydro-Doisynolique à 1 gamma.. Blocage rapide.
2 — Oestrone à 10 gammas......Arrêt avant ou à la 1re phase.
3 — Désoxycorticostérone à 5 milligr..... arrêt à la 1re phase.
4 — Prégnéninolone à 10 gammas.......... arrêt à la 1re phase.
5 — Folliculine à 2 milligr .... arrêt à la 2e phase.
6 — Testostérone à 35 milligr............. arrêt à la 3e phase.
7 — Progestérone à 15 milligr.............. arrêt à la 3e phase.

On voit que deux des substances féminisantes possèdent un pouvoir antagoniste remarquable, surtout la première qui est un oestrogène artificiel. Deux des substances masculinisantes la Prégnéninolone (artificielle) et la Testostérone (naturelle) possèdent un pouvoir antagoniste plus faible, surtout la dernière, mais elles le possèdent administrées *avant ou après* l'injection de thyroxine, tandis que la Désoxycorticostérone n'agit que délivrée *avant* ce traitement, comme les substances oestrogènes.

Parallèlement à ces expériences, je fis personnellement d'autres essais avec des têtards d'*Alytes obstétricans* LAUR. et de Rana *Temporaria* L.

Dans une première série j'utilisai des têtards d'Alytes parvenus au stade C de KOLLMANN (*17*), ce qui veut dire que leurs pattes postérieures étaient visibles mais très petites. Ils mesuraient, en moyenne, 17 millimètres de longueur de corps et 45 millimètres de longueur

totale. Chaque animal était immergé dans 200 c. c. d'eau du robinet (pH 7.5) et répartis selon le dispositif suivant.

A)	=	1	gamma d'oestrone %,	puis	0,65	gammas de	thyroxine	%
B)	=	10	— —	— —	0,65	—	—	%
C)	=	1	— —	— —	3,25	—	—	%
D)	=	10	— —	— —	3,25	—	—	%
E)	=	1	— —	— —	0,65	—	—	%

F) = 0,65 — de thyroxine pour %, puis un gamma d'oestrone %.

L'oestrone en solution hydro-acétonique fut mélangée au milieu et parfaitement supportée par les animaux.

La thyroxine fut délivrée pendant 7 jours, quelle que fut la modalité de traitement choisie.

Les résultats de cette expérience furent des plus nets : il ne survint aucune métamorphose parmi les animaux qui avaient été soumis au traitement thyroxinien après avoir subi l'action de l'oestrogène, alors que, celui qui avait été soumis à l'action simultanée de l'oestrone et de la thyroxine, ainsi que celui qui avait été traité par l'oestrone après avoir reçu de la thyroxine se métamorphosèrent rapidement, le premier en 16 jours avec un coefficient anormal de 1,65 et le second en 20 jours avec un coefficient également anormal de 2,3. Pendant ce même laps de temps, le têtard témoin était resté tel quel et les autres avaient gagné de 1 à 3 stades.

Dans une seconde série, j'utilisai comme matériel expérimental des têtards de Rana temporaria provenant d'une même ponte pris, comme les animaux de la première série au stade C de Kollmann (*17*) et mesurant en moyenne 25 millimètres de longueur totale.

Ces têtards furent répartis en 10 lots de 4 individus plus un lot de contrôle, chaque lot était immergé dans 200 c. c. d'eau du robinet. Les 10 lots recevant de l'oestrone et de la thyroxine étaient ainsi disposés.

a)	Oestrone à	1	gamma %, puis	0,65	gamma %	de thyroxine	6	jours après
b)	—	2	—	0,65	—		6	—
c)	—	3	—	0,65	—		6	—
d)	—	4	—	0,65	—		6	—
e)		5	—	0,65	—		6	—
f)	—	6	—	0,65	—		6	—
g)	—	7	—	0,65	—		6	—
h)	—	8	—	0,65	—		6	—
i)	—	9	—	0,65	—		6	—
j)	—	10	—	0,65	—		6	—

L'oestrone fut d'abord mélangée au milieu pendant 6 jours, puis ce traitement fût arrêté et la thyroxine fût, à son tour, mélangée au milieu de manière à donner une dilution de 1 pour cent millions, soit 0,65 gammas pour 100 c. c.

Il se produisit des métamorphoses et des pré-métamorphoses dans les lots qui avaient reçu 1-2 et 3 gammas d'ocstrone pour 100 c. c. ; une métamorphose dans chacun des lots ayant reçu 7,9 et 10 gammas d'oestrone. Dans les lots (4,5,6,8 gammas) où il nc s'était produit aucune métamorphose et dans les trois lots où il ne s'en était produit qu'une seule, les têtards ne dépassèrcnt pas le stade E (grandes pattes allongécs le long de la queuc), c'est-à-dire qu'ils avaient, comme les animaux de contrôle, gagné deux stades.

Les coefficients furent, dans l'ensemble, assez faiblement anormaux : 1,20 — 1,11 — 1,00 — 1,25 et 1,11 les chiffres normaux étant de 0,90 à 0,85 pour les petites grenouilles de cette espèce.

On peut dire que, dans cette expérience, l'action antagoniste de l'oestrone commence à 4 gammas pour cent. Autremcnt dit, il faut au moins 4 gammas d'oestrone pour neutraliser l'action de 0,65 gammas de thyroxine. C'est à peu près ce qui s'est passé dans l'expérience déjà relatée.

Dans les expériences faites avec les Axolotls, je rappelle que 10 gammas d'oestrone ont empêché l'action de 32 gammas de thyroxine mais il faut se souvenir que, chez l'Axolotl, ces deux substances furent délivrées en injection et que ces animaux montrèrent un début de métamorphose.

Discussion. — S'il ne s'agissait que d'interpréter l'action antaginiste de l'oestrone dans la métamorphose expérimentale des tétards, on pourrait dire que le traitement préalable par cet oestrogène provoque une décharge de l'hormone thyréotrope de l'antéhypophyse qui stimule la thyroïde dont la sécrétion neutralise alors l'hormone importée, comme cela se voit quand on installe un traitement thyroxinien chez des têtards dont le développement est trop avancé (Etkin (*10*) et dont les processus de la métamorphosc se trouvent dépendre alors exclusivement de l'activité du corps thyroïde de ces animaux, mais, pour pouvoir interpréter l'action des oestrogènes produite dans les mêmes conditions expérimentales chez les Axolotls, il faut tenir compte de certaines particularités de la physiologie de ces animaux.

Tout d'abord leur néoténie facultative dont la cause est encore inconnue. Bien que Jensen (*15*, *16*), après avoir fait une étude histologique de la thyroïde de l'Axolotl, conclût à une certaine activité de cette glande chez les jeunes et à une torpeur fonctionnelle chez les animaux plus âgés, Swingle (*29*, *30*, *31*), a pu, un an après le travail de Jensen (*15*, *16*), provoquer la métamorphose rapide des têtards de *Rana temporaria* au moyen de la greffe de fragments de corps thyroïde de l'Axolotls du Colorado égaux au 1/6e environ du volume de la glande. Le même auteur a réussi, après plusieurs essais infructueux, à provoquer la métamorphose

des Axolotls du Colorado, en leur injectant, dans le péritoine, outre leur propre corps thyroïde, ceux de deux autres sujets de la même espèce. La glande thyroïde dc l'Axolotl, tout au moins de l'Axolotl du Colorado, paraît donc être plus ou moins fonctionnelle.

Cettc fonction diminuée a-t-elle pour cause la carence ou l'insuffisance de la sécrétion de l'hormone thyréotrope de l'hypophyse antérieure ?

La présence de colloïde dans la thyroïde du jeune Axolotl semblerait prouver, à un certain moment de son développement, l'activité de l'anté-hypophyse. D'autre part, Smith (*27*), en injectant, dans le péritoine de l'Axolotl du Colorado, de l'extrait frais d'antéhypophyse de bovidés, produisit un *retard* par rapport aux animaux qui avaient reçu seulement des extraits de thyroïde.

Les expériences de Hogben et Crew (*13*), de Spaul (*28*), de Clement et Howes (*8*), n'ont pas rapportés de résultats significatifs. Uhlenhuth et Schwartzbach (*33*), pensent que le traitement hypophysaire n'agit qu'en présence d'un corps thyroïde actif, ce qui excluerait, en se référant aux conclusions de Jensen, toute efficacité d'un traitement chez dcs Axolotls trop âgés.

Un autre fait est à considérer, c'est que l'Axolotl sexuellement mûr perd la faculté de se métamorphoser *spontanément*, c'est-à-dire que de facultative, la néotćnie devient presque obligatoire. Huxley et Hogben (*14*) ont montré que, chez les Axolotls près de la maturité ou sexuellement mûrs, le traitemcnt thyroxinien agit beaucoup plus lentement et difficilement que chez les animaux immatures, lc temps nécessaire à la métamorphose est augmcntć de 50 pour ccnt, ce que j'ai moi-même constaté (*20*), et Jensen a observé quc le traitement thyroxinien instauré chez deux femelles d'Axolotls pendant la ponte l'avait suspendue. On sait, d'autre part que, chez les Batraciens, les gonades nc suivent pas le développement accéléré imposć au soma par l'agent métamorphotique et Bounhiol (*1*) écrit que « tout se passe comme si la maturité sexuelle inhibait, dans ce cas, les dernières étapes du développemcnt somatique. Des hormoncs sexuelles ou autres s'opposent-elles à celles provoquant la métamorphose ? — C'est là toute la question.

J'ai toujours tenu compte de ces particularités de la physiologie de l'Axolotl dans la préparation des expériences. Quant à leur incidence sur l'interprétation de l'action antagoniste des substances oestrogènes dans les conditions expérimentales que je viens de rapporter, elle ne peuvent permettre l'élimination de la participation du relai anté-hypophysaire à cette action. En effet Gessler (*11*) avait trouvé une activité anti-thyroïdienne à la folliculine et montré le rôle joué par l'hypophyse dans cet antagonisme, Tutajew et Philipowna (*32*) de leur coté, avaient montré que les ovaircs transplantés avaient une action antagoniste sur la métamorphose de l'Axolotl

provoquée par l'ingestion d'un extrait thyroïdien mais, dans ce cas, les auteurs invoquaient l'augmentation du tonus para-sympathique. Quoï qu'il en soit, je pense que si, comme on le croit, les substances oestrogènes excitent la sécrétion de l'anté-hypophyse, cette action pourrait cxpliquer les résultats positifs que Sluczewski et moi-même avons obtenu en délivrant ces substances *avant* le traitement thyroxinien et les résultats négatifs que j'enregistrai quand elles étaient injcctées *après* ce même traitement. Dans le premier cas elles auraient stimulé indirectement la sécrétion thyroïdienne des sujets qui se serait alors opposée à l'action de l'hormone exogène administrée et, dans le second cas, cette stimulation n'aurait pu se faire par suite de la prédominance de l'action de la thyroxine préalablement importée.

Quant à l'action antagoniste des substances androgènes beaucoup plus faible qui s'exerce indifféremment avant ou après le traitement thyroxinien, le déterminisme de cette action n'est certainement pas le même, bien que Elmer et ses collaborateurs (*9*) aient émis l'opinion contraire.

Caridroit et ses collaborateurs (*2-3-4-5-6-7-*) ont montré que l'hormone thyroïdienne et la thyroxine avaient une action favorisante dans la masculinisation du Chapon par l'hormone mâle, mesurée par le tcst de la réponse de la crête à cette hormone. La réceptivité dc ce tissu vis-à-vis dc cette hormone est accrue par le traitemcnt thyroxinien et le seuil de la réponse diminuée. De même, le développement des vésicules séminales des Souris mâles castrés est favorisé par l'hormone thyroïdicnne.

Caridroit pense que, dans ce cas, c'est l'élévation du métabolisme basal, un des effets de la thyroxine, qui serait responsable de la réceptivité accrue de la crête du Chapon à l'hormone mâle. En effet, le Chapon privé de son corps thyroïde, réagit beaucoup plus faiblement à l'injection de cette hormone que le Chapon dont le corps thyroïde est en place. Chez le Chapon thyréoprivé, la thyroxine supplée à la thyroïde absente.

Dans le cadre des expériences rapportées ici, les gonades des animaux, têtards et Axolotls sont en place mais non encore fonctionnelles, de ce fait, je ne sais s'il est possible de faire un parallèle entre ces expériences et celles de Caridroit. Tout ce que l'on peut dire, c'est que, comme je l'ai rappelé plus haut, l'action antagoniste de la testostérone est renforcée quand on a fait préalablement une injection d'hormone thyréotrope qui remplacerait la sécrétion hypophysaire insuffisante.

Des expériences actuellement en cours et comportant l'hypophysectomie préalable des Axolotls placés dans des conditions expérimentales semblables à celles que j'ai décrites permettront, je l'espère, de préciser le rôle joué par l'hypophyse antérieure.

Conclusions. — 1° Les substances Oestrogènes délivrées *avant* le traitement thyroxinien à des têtards de Batraciens Anoures et à des Axolotls albinos immatures, s'opposent à la métamorphose expérimentale en fonction de leur efficacité. Délivrées *après* le traitement thyroxinien ou *simultanément* avec lui *elles sont de nul effet.*

2° On peut dire que, chez les Batraciens anoures en particulier, l'oestrone, délivrée *préalablement* au traitement thyroxinien (0,65 gammas pour cent) *en inhibe l'action à partir de* 4 *gammas pour cent.*

3° L'action anti-thyroïdienne des substances Oestrogènes se produirait par l'intervention de l'hypophyse antérieure. Ce déterminisme serait le même pour les têtards des Batraciens Anoures et pour les Axolotls immatures ; malgré les différences existant dans leur physiologie.

Laboratoire d'Ethologie des Animaux sauvages du Muséum.

BIBLIOGRAPHIE

1. Bounhiol (J.-J.). — Le déterminisme des métamorphoses chez les Amphibiens — Hermann et Cie — Paris, 1942, p. 48.
2. Caridroit (F.). — *C. R. Soc. Biol.*, 1941, **135** (1570).
3. Caridroit (F.) et Régnier V.). — *Rev. SCI.* Paris 1941, **79**, (309-15).
4. Caridroit (F.) et Arvy (L.). — *C. R. Soc. Biol.* 1942, **136**, (3-6).
5. Caridroit (F.). — *C. R. Soc. Biol.* 1942, **136**, 732.
6. Caridroit (F.). — *Rev. Sci.* 1942, **3208**, fasc. 5, (230-31).
7. Caridroit (F.). — *C. R. Soc. Biol.* 1947, **151**, (125).
8. Clements (D.-J.) and Howes (N. H.). — *J. Exp. Biol.* 1938, **15**, (541-54).
9. Elmer (A. W.). Giedosz (B.) et Scheps (M.). — *C. R. Soc. Biol.* 1939, **131**, (291).
10. Etkin (W.). — *J. Exp. Zool.* 1935, **71** (317-40).
11. Gessler (C.). — *Arch. int. Pharmacodyn. et Thérap.* 1937, **53**, (263-7).
12. Hogben (L. T.). — *Proc. Roy. Loc.* 1922, *B.* **94**, (204-15).
13. Hogben (L. T.), and Trew (F. A. E.). — *British. J. Exp. Biol.* 1923, **1**, (1-15).
14. Huxley (J. S.) and Hogben (L. T.). — *Proc. Roy. Soc.* 1922, *B.* **93** (36-54).
15 Jensen (O.). — *C. R. Soc. Biol.* 1921, **84**, (423).
16. Jensen (O.). — *C. R. Soc. Biol.* 1921, **85**, (391-92).
17. Kollmann (M.). — *C. R. Soc. Biol.* 1919, **82**, (1009).
18. Lederer (J.). — *Thérapie*, 1946, **1**, n° 5 (213-19).
19. Loeser, cité par Elmer, in *C. R. Soc. Biol.* 1939, **131**, (291).
20. Roth (P.). — Bull. Muséum, 1941, 2e Sér., **13**, n° 5 (500-3).
21. Roth (P.). — Bull. Muséum, 1942, 2e Sér., **14**, n° 6 (480-83).
22. Roth (P.). — Bull. Muséum, 1943, 2e Sér., **15**, n° 2 (99-100).
23. Roth (P.). — Bull. Muséum, 1946, 2e Sér., **18**, n° 3 (300-4).
24. Roth (P.). — Bull. Muséum, 1947, 2e Sér., **19**, n° 1 (131-34).
25. Simpson, cité par Elmer, in *C. R. Soc. Biol.*, 1939, **131**, (291).

26. Sluczewski (A.) et Roth (P.). — *Gynèc. et Obst.* 1948, **47**, n° 2, (164-76).
27. Smith (P. E.). — *J. Exp. Biol.* 1926, **3**, (239-49).
28. Spaul (E. A.). — *Brit. J. Exp. Biol.*, 1924, **2**, (33-57).
29. Swingle (W. W.). — *J. Exp. Biol.* 1922, **36**, (397-421).
30. Swingle (W. W.). — *Anat. Rec.*, 1924, **27**, (220).
31. Swingle (W. W.). — *Anat. Rec.*, 1925, **29**, (101)
32. Tutajew (G. W.) und Philipowna (E. N.). — *Zt. f. Biol.*, 1931, **91** (278-87).
33. Uhlenhuth (E.) and Schwartzbach (S. S.). — *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1928, **26** (149-54).
34. Zavadowsky (B. M.) and Zavadowsky (E. V.). — *Endocrinology*, 1926, **10**, (550-9).